



TITLE:

ALC1/CHD1L, a chromatin-remodeling enzyme, is required for efficient base excision repair( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Cho, Kosai

---

CITATION:

Cho, Kosai. ALC1/CHD1L, a chromatin-remodeling enzyme, is required for efficient base excision repair. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13164>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	趙 晃 済
論文題目	ALC1/CHD1L, a chromatin-remodeling enzyme, is required for efficient base excision repair (クロマチンリモデリング酵素 ALC1/CHD1L は効率的な塩基除去修復に必須である)		
(論文内容の要旨)			
<p>poly(ADP-ribose)ポリメラーゼ(PARP)1およびPARP2はDNA 傷害部位にpoly(ADP-ribose) (PAR) を合成することでDNA 修復分子の集積を容易にし、塩基除去修復を促進することで知られている。一方、ALC1 は、ATPase 活性を有しクロマチンリモデリング酵素として機能する SNF2 superfamily の一員として知られており、そのマクロドメインで PAR に結合するとされている。</p> <p>近年の報告によると、ALC1 遺伝子の破壊によってさまざまな DNA 毒性を持つ物質（紫外線、過酸化水素、phleomycin）に感受性があることが知られてきたが、ALC1 の DNA 修復における詳細なメカニズムや、ALC1 と PARP1 との関連については未だ明らかでない点が多い。</p> <p>そこで、DNA 修復における ALC1 の機能解析および ALC1 の ATPase 活性の意義を解明するために、chicken DT40 細胞において ALC1 遺伝子を破壊して <i>ALCI</i><sup>-/-</sup>変異細胞を作成した。加えて、E165Q 点変異を導入し ATPase 活性を低下させた変異細胞 (<i>ALCI</i><sup>-/-E165Q</sup>) を作成した。<i>ALCI</i><sup>-/-</sup>と <i>ALCI</i><sup>-/-E165Q</sup>は、過酸化水素と methylmethane sulfonate(MMS)に同等程度に強い感受性を示した。これは ALC1 の DNA 修復においては、ATPase が中心的な役割を担っていることを示唆した。</p> <p>また、ALC1 と PARP1 との関連を検討するために、<i>ALCI</i><sup>-/-</sup>細胞において PARP1 遺伝子を破壊して、<i>ALCI</i><sup>-/-</sup> <i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞を作成した。<i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞と <i>ALCI</i><sup>-/-</sup> <i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞は、MMS に対しては同等の感受性を示した、これは ALC1 と PARP1 が塩基除去修復において協調して機能することを示唆するものである。一方過酸化水素への感受性は <i>ALCI</i><sup>-/-</sup>細胞で最も強く、<i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞と <i>ALCI</i><sup>-/-</sup> <i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞では同等の感受性であった。これは ALC1 と PARP1 がエピスタティックな関係であることを示唆する。</p> <p>ALC1 が塩基除去修復に関与していることの確認のために、DNA1 本鎖切断 (DNA1 本鎖切断は塩基除去修復の中間産物である) の検出方法として確立されているアルカリコメットアッセイおよびアルカリエリューションアッセイを行ったところ、過酸化水素への一過性暴露後、<i>ALCI</i><sup>-/-</sup>細胞、<i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞と <i>ALCI</i><sup>-/-</sup> <i>PARP1</i><sup>-/-</sup>細胞ではいずれも DNA1 本鎖切断修復に遅れが見られた。</p> <p>さらに同様の検討をヒト TK6 細胞においても行い、同様の結果を得た。</p> <p>次いで、ALC1 の塩基除去修復における詳細なメカニズムを検討するために、マイクロコッカスヌクレアーゼによるクロマチン消化実験を行った結果、<i>ALCI</i><sup>-/-</sup>細胞において部分消化のクロマチン総量が少ないという結果が得られた。</p> <p>以上から、ALC1 は恐らく DNA 傷害部位のクロマチンリモデリングを通じて塩基除去修復に関連する因子のアクセスを容易にすることにより、塩基除去修復において必須の機能を有していると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)	
<p>PARP1 はその阻害剤がいくつかの癌種で臨床応用されている重要な分子である。PARP1 はDNA 傷害部位においてpoly(ADP-ribose) (PAR) を合成することで塩基除去修復を促進することが知られている。一方、PAR に結合する因子として、クロマチンリモデリング酵素 ALC1 が同定されており、ALC1 の活性が低下した細胞はDNA 毒性を持つ物質に感受性を示すことが報告されてきた。しかしながら、ALC1 のDNA 修復における詳細な機能や、ALC1 とPARP1 との機能的関連については未だ明らかでなかった。</p> <p>そこで、chicken DT40 細胞においてALC1 遺伝子を破壊した <i>ALCI</i><sup>-/-</sup>細胞を作製し、表現型の解析を行った。その結果、<i>ALCI</i><sup>-/-</sup>細胞は過酸化水素とmethylmethane sulfonate に高い感受性を示すとともに、DNA1 本鎖切断定量によって修復の遅れが検出されたことから、ALC1 が塩基除去修復に関与することが示唆された。また、ALC1 はPARP1 と協調的に機能していることが示された。次いで、ALC1 の塩基除去修復における詳細なメカニズムを検討するために、マイクロコッカスヌクレアーゼによるクロマチン部分消化実験および過酸化水素暴露下でのヒストンH3 クロマチン解離アッセイを行ったところ、ALC1 がクロマチンリモデリングを通じてDNA 修復に作用していることが示唆された。</p> <p>以上の研究は、塩基除去修復メカニズムの解明に貢献し、腫瘍生物学の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 2 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>	